

## ОЦЕНКА СВЯЗИ КОМБИНАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ С ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬЮ К ВОЗНИКНОВЕНИЮ РАКА ЛЕГКОГО

*Дисбаланс между фазами системы биотрансформации (активацией, детоксикацией и выведением токсичных соединений) — одна из причин развития мультифакторной патологии. Поэтому представляется важным изучить влияние суммарного вклада полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков всех трех фаз в предрасположенность к возникновению рака легкого. Цель работы — изучение связи полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков с риском возникновения рака легкого для выявления молекулярно-генетических маркеров предрасположенности к этому заболеванию. Показано, что нуль-генотип GSTT1 играет доминирующую роль в развитии предрасположенности к раку легкого в белорусской популяции, при этом полиморфные варианты других генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков оказывают модифицирующий эффект на предрасположенность к этому заболеванию: наибольшую рискованную значимость имеет комбинация 734AA CYP1A2/GSTT1(-)/GSTM1(+)/«медленный» ацетилятор/3435CCMDR1, а комбинация GSTT1(+)/GSTM1(+)/«медленный» ацетилятор оказывает защитное влияние.*

**Ключевые слова:** генетический полиморфизм, ферменты биотрансформации ксенобиотиков, рак легкого.

**Введение.** Рак легкого (РЛ) — это наиболее распространенное и агрессивное злокачественное новообразование в мире, в том числе и в Республике Беларусь. Небольшая разница между показателями заболеваемости (43,3 на 100 000 населения) и смертности (31,8 на 100 000 населения) свидетельствует как о неудовлетворительных результатах лечения, так и о несвоевременной его диагностике [1].

В силу того, что легкие и другие органы дыхания находятся на границе раздела двух сред — внутренней среды организма и внешней, они постоянно оказываются подверженными неблагоприятному влиянию вредных веществ, загрязня-

ющих атмосферный воздух. Эффективное противодействие различным ксенобиотикам, поступающим в организм человека, осуществляется системой согласованно функционирующих ферментов биотрансформации ксенобиотиков (ФБК). С точки зрения современной биологии и медицины именно от метаболического статуса организма зависят риск развития и характер течения многих заболеваний, в том числе онкологических. С этих позиций в исследовании предрасположенности к РЛ наиболее перспективным объектом являются полиморфные варианты генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков, экспрессия которых в отличие от других классов генов непосредственно регулируется влияниями средовых факторов химической природы [2]. Цель работы — изучение связи полиморфных вариантов генов ФБК с риском возникновения РЛ для выявления молекулярно-генетических маркеров предрасположенности к этому заболеванию.

**Материалы и методы.** В исследование включены 115 больных немелкоклеточным РЛ (87 мужчин и 28 женщин), проходивших лечение в Минском онкологическом диспансере в период с 2003 по 2009 г. Средний возраст больных составил 62,7 лет и варьировал от 46 до 81 года. Диагноз РЛ основывался на данных анамнеза и результатах рентгенологического, эндоскопического и морфологического обследований. Все случаи заболевания РЛ классифицированы по системе TNM [3]. Гистологический тип РЛ устанавливался в соответствии с современной гистологической классификацией [4].

В контрольную выборку вошли 328 человек без онкопатологии (187 мужчин и 141 женщина), постоянно проживающих на территории Беларуси. Контрольная группа соответствовала по возрасту и сопутствующим заболеваниям группе больных РЛ.

В ходе выполнения работы методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и методом анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ) исследованы следующие полиморфизмы генов ФБК: *CYP1A2* (С734А, rs762551); *GSTT1* (делеция); *GSTM1* (делеция); *NAT2* (С481Т, rs1799929; G590А, rs1799930; G857А, rs1799931) и *MDR1* (С3435Т, rs1045642).

Специфические праймеры, использованные в работе, представлены в табл. 1. Полимеразную цепную реакцию проводили на амплификаторе MyCycler™ Thermal cycler «BIORAD» (США). Праймеры синтезировались ОДО «Праймтех» (Беларусь). Изготовитель реагентов для проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ – НПО «Fermentas» (Литва).

Условия ПЦР для каждого из фрагментов подобраны экспериментально и представлены в табл. 2.

Для изучения полиморфизма С734А (rs762551) в 5'-некодировущей области гена *CYP1A2* амплифицированный фрагмент длиной 385 п.н. подвергали рестриктному расщеплению эндонуклеазой AраI. Генотипы идентифицировали по длине полученных в ходе рестрикции фрагментов: 734СС – 262+123; 734СА – 385+262+123

и 734АА – 385 п.н. Гомозиготность по нулевым аллелям генов *GSTM1* и *GSTT1* выявляли на электрофореграммах по отсутствию фрагментов амплификации размером 215 и 480 п.н. соответственно. Наличие этих фрагментов свидетельствовало о присутствии по крайней мере одной нормальной (без делеции) копии генов (гомо- или гетерозиготы). В качестве внутреннего контроля использовали амплификацию фрагмента гена *ALB*. Для изучения полиморфизмов С481Т (rs1799929), G590А (rs1799930) и G857А (rs1799931) гена *NAT2* амплифицированный фрагмент длиной в 547 п.н. подвергали рестриктному расщеплению эндонуклеазами KpnI, TaqI, BamHI соответственно. Изучаемые варианты длин рестриктных фрагментов после обработки соответствующими рестриктазами представлены в табл. 3.

Амплифицированный фрагмент гена *MDR1* длиной 207 п.н. подвергали рестриktionному расщеплению эндонуклеазой MboI для изучения полиморфизма С3435Т (rs1045642). Генотипы идентифицировали по длине полученных в ходе рестрикции фрагментов: 3435СС – 145 + 62; 3435СТ – 207 + 145 + 62 и 3435ТТ – 207 п.н.

Статистическую обработку материала осуществляли с использованием пакета прикладных

Таблица 1. Последовательность праймеров

Ген	Праймер		Размер продукта, п.н.	Источник
	прямой	обратный		
<i>CYP1A2</i>	5'-ggtatatggaaggtatcagc-3'	5'-gggttgagatggagacattc-3'	385	[5]
<i>GSTM1</i>	5'-gaactccctgaaaagctaaaagc-3'	5'-gtgggctcaaatatacgggtgg-3'	215	[6]
<i>GSTT1</i>	5'-ttcctactgtgctctcacatctc-3'	5'-tcaccggatcatggccagca-3'	480	[6]
<i>ALB</i>	5'-gccctctgctaacaagtcctac-3'	5'-gccctaaaagaataatcgccaatc-3'	350	[6]
<i>NAT2</i>	5'-gctgggtctggaagctcctc-3'	5'-ttgggtgatacatacacaagg-3'	547	[7]
<i>MDR1</i>	5'-gatggcaagaataaagc-3'	5'-cttacattaggcagtgactcg-3'	207	[8]

Таблица 2. Программа ПЦР для исследованных генов

Ген	Программа амплификации
<i>CYP1A2</i>	94 °С – 12 мин, [94 °С – 30 с, 58 °С – 30 с, 72 °С – 30 с] × 35 циклов, 72 °С – 1 мин
<i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>ALB</i>	95 °С – 5 мин, [95 °С – 30 с, 64 °С – 60 с, 72 °С – 60 с] × 30 циклов, 72 °С – 5 мин
<i>NAT2</i>	94 °С – 7 мин, [94 °С – 40 с, 59 °С – 40 с, 72 °С – 1 мин] × 30 циклов, 72 °С – 5 мин
<i>MDR1</i>	94 °С – 5 мин, [94 °С – 30 с, 55 °С – 30 с, 72 °С – 60 с] × 40 циклов, 72 °С – 7 мин

программ «Statistica for Windows 6.0». Об ассоциации генотипов с предрасположенностью к РЛ судили по величине отношения шансов (odds ratio, OR), которую рассчитывали по стандартной формуле  $OR = (A/B)/(C/D)$ , где А и В – количество больных, имеющих и не имеющих мутантный генотип соответственно; С и D – количество человек в контрольной группе, имеющих и не имеющих мутантный генотип. OR указан с 95%-ным доверительным интервалом (95%CI). Если 95%CI для OR включает единицу, то различие между группами по изучаемому признаку статистически незначимо. Если 95%CI располагается в области справа от единицы (т.е. все значения 95%CI больше 1), то OR (>1) статистически значимо выше в исследуемой группе по отношению к контрольной, т.е. имеет место повышение рисковости значимости. Чем больше

значение OR, тем больше рисковая значимость. Если 95%CI располагается левее единицы (все значения 95%CI меньше 1), то OR (<1) статистически значимо снижен в исследуемой группе по отношению к контрольной группе, т.е. имеет место защитный (протективный) эффект. Чем меньше значение OR, тем выше защитный эффект [9].

**Результаты исследований и их обсуждение.** Процесс биотрансформации обычно подразделяется на три фазы: I – активация, II – нейтрализация, III – эвакуация. Известно, что дисбаланс процессов активации, инактивации и выведения токсичных соединений дает толчок к накоплению мутаций и неконтролируемому росту клеток. Поэтому представляется важным изучение влияния отдельных полиморфных вариантов генов ФБК и их суммарного

Таблица 3. Варианты длин рестриктных фрагментов гена *NAT2* после обработки рестриктазами *KpnI*, *TaqI*, *BamHI*

Показатель	С481, <i>KpnI</i>			G590A, <i>TaqI</i>			G857A, <i>BamHI</i>		
	CC	CT	TT	GG	GA	AA	GG	GA	AA
Длина фрагментов, п.н.	433+114	547+433+114	547	222+170+155	392+222+170+155	392+155	490	547+490	547

Таблица 4. Частота распределения полиморфных вариантов генов *CYP1A2*, *GSTT1* и *GSTM1* и их комбинаций у исследуемых групп

Генотип	Больные РЛ		Контроль		OR (95%CI)
	n	%	n	%	
<i>CYP1A2</i>					
734AA	48	52,2	155	47,2	1,22 (0,77–1,93)
734CA	38	41,3	154	47,0	0,80 (0,50–1,27)
734CC	6	6,5	19	5,8	1,13 (0,44–2,93)
Аллель А	134	72,8	464	70,7	1,11 (0,77–1,60)
Аллель С	50	27,2	192	29,3	0,90 (0,63–1,30)
<i>GSTM1</i> (-)	53	46,1	138	42,1	1,17 (0,76–1,80)
<i>GSTM1</i> (+)	62	53,9	190	57,9	0,85 (0,55–1,30)
<i>GSTT1</i> (-)	33	28,7	47	14,3	2,40 (1,45–4,00) *
<i>GSTT1</i> (+)	82	71,3	281	85,7	0,41 (0,24–0,69) *
<i>GSTT1</i> (+)/ <i>GSTM1</i> (+)	42	36,5	160	48,8	0,60 (0,39–0,94) *
<i>GSTT1</i> (+)/ <i>GSTM1</i> (-)	40	34,8	121	36,9	0,91 (0,58–1,42)
<i>GSTT1</i> (-)/ <i>GSTM1</i> (+)	20	17,4	30	9,1	2,09 (1,13–3,82) *
<i>GSTT1</i> (-)/ <i>GSTM1</i> (-)	13	11,3	17	5,2	2,33 (1,09–4,97) *

\* P < 0,05 – значимые различия по критерию  $\chi^2$ .

вклада в предрасположенность к возникновению РЛ.

Фермент I фазы биотрансформации ксенобиотиков CYP1A2 участвует в метаболизме полициклических ароматических углеводов, ароматических и полициклических аминов, в том числе и входящих в состав табачного дыма [10]. Индивидуальные различия в уровне экспрессии этого фермента опосредуются наличием генетического полиморфизма гена CYP1A2. Установлено, что полиморфизм C734A гена CYP1A2, обусловленный заменой цитозина на аденин в позиции 734 от начала сайта транскрипции, приводит к изменению каталитической активности фермента [11].

Распределение частот полиморфных вариантов гена CYP1A2 у больных РЛ было следующим: генотип 734AA – 52,2 %; генотип 734CA – 41,3 % и генотип 734CC – 6,5 %, и не отличалось от распределения в контрольной группе (табл. 4).

Высокая активность фермента CYP1A2 ассоциирована с риском развития многих онкологических заболеваний. Исследований, посвященных изучению ассоциации C734A полиморфизма гена CYP1A2 с риском развития РЛ, немного. Полученные нами данные не показывают достоверной ассоциации упомянутого полиморфизма с предрасположенностью к РЛ.

Ферменты II фазы биотрансформации ксенобиотиков генов GSTM1 и GSTT1 принимают участие в детоксикации активированных цитохромом P450 реактивных метаболитов. Сниженная активность или отсутствие этих ферментов, вызванные гомозиготными делециями генов, приводят к более длительному сохранению в организме промежуточных метаболитов, способствующих развитию злокачественной трансформации клеток [2]. Поскольку ферменты, кодируемые генами GSTT1 и GSTM1, являются важными компонентами системы детоксикации, гомозиготность по нулевому аллелю одного или другого гена может приводить к повышенной восприимчивости организма к вредным воздействиям и, как следствие, к увеличению риска возникновения злокачественных новообразований, в том числе и РЛ [2].

Анализ ассоциации полиморфных вариантов генов GSTT1, GSTM1 и их комбинаций (табл. 4) с предрасположенностью к развитию

РЛ показал отсутствие различий по частоте встречаемости генотипа GSTM1(-) (46,1 %) между группой больных РЛ и людей без онкопатологии (42,1 %). Частота встречаемости генотипа GSTT1(-) в группе больных РЛ (28,7 %) была выше в два раза по сравнению с контрольной группой (14,3 %) ( $\chi^2 = 11,88$ ;  $p < 0,05$ ).

При анализе ассоциации различных комбинаций генотипов GSTT1 и GSTM1 с предрасположенностью к РЛ установлено (табл. 4), что комбинация GSTT1(+)/GSTM1(+) чаще встречается в контрольной группе и имеет защитное значение (OR = 0,60; 95 %CI: 0,39–0,94). Сравнение частоты встречаемости комбинаций GSTT1(-)/GSTM1(+) и GSTT1(-)/GSTM1(-) у больных РЛ и контрольной группы показало достоверную рисковую значимость этих комбинаций в развитии РЛ (OR = 2,09; 95 %CI: 1,13–3,82 и OR = 2,33; 95 %CI: 1,09–4,97 соответственно). Полученные данные указывают на доминирующую роль генотипа GSTT1(-) в формировании предрасположенности к развитию РЛ.

Связь GSTT1 и GSTM1 с риском возникновения РЛ активно изучается многими исследовательскими коллективами, при этом имеются достаточно противоречивые данные [12, 13]. Ассоциация GSTT1(-) с увеличением риска возникновения РЛ показана для некоторых европейских и азиатских популяций [12, 14, 15]. Российские исследователи [16, 17] установили достоверное увеличение частоты встречаемости гомозиготной делеции гена GSTT1 у больных РЛ и пациентов с хроническими неспецифическими заболеваниями легких. Результаты многочисленных исследований по изучению связи полиморфизма гена GSTM1 с предрасположенностью к РЛ также противоречивы.

Практически во всех опубликованных работах наблюдаемые различия по частоте встречаемости генотипа GSTM1(-) между больными РЛ и контрольными группами были небольшими (OR колебался от 1,10 до 1,5), а в работах некоторых европейских и американских исследователей не обнаружено такой связи [18]. Однако российские исследователи рассматривают генотип GSTM1(-) как вероятный фактор риска развития РЛ [16]. Противоречивость данных, полученных разными исследователями, может быть объяснена реально существующими отличиями в генотипической структуре изучаемых

популяций. В частности, различные этнические группы могут иметь неодинаковое соотношение аллелей генов ферментов, которые обладают сходной с глутатион-S-трансферазами субстратной специфичностью.

Основным ферментом ацетилирования ряда гидразиновых и ариламиновых ксенобиотиков является NAT. В настоящей работе проводилось генотипирование *NAT2* по трем полиморфным сайтам – С481Т, G590А, G857А. Обследованных индивидуумов в соответствии с принятыми подходами делили на «быстрых» и «медленных» ацетиляторов [19]. К «быстрым» ацетиляторам относили обладателей комбинации генотипов 481CC/590GG/857GG, а также тех, у кого только один из трех исследуемых генотипов находился в гетерозиготном состоянии (481CT/590GG/857GG; 481CC/590GA/857GG и 481CC/590GG/857GA). Все остальные комбинации генотипов составили группу «медленных» ацетиляторов.

В большинстве исследований, проведенных на европеоидных популяциях, не обнаружено достоверной связи ассоциаций полиморфизма гена *NAT2* с риском возникновения РЛ [20], однако показано, что «медленный» тип ацетилирования в комбинации с нуль-генотипом *GSTM1* ассоциирован с риском развития плоскоклеточного РЛ и мезотелиомы [21, 22].

В табл. 5 представлены данные, полученные при сравнительном анализе «быстрых» и «мед-

ленных» ацетиляторов, которые имеют различные комбинации генотипов по *GSTT1* и *GSTM1* у 92 пациентов РЛ и 328 человек без онкопатологии. Выявлено, что наибольшую достоверную рисковую значимость имеет комбинация генотипов *GSTT1(-)/GSTM1(+)* и «медленное» ацетилирование (OR = 2,48; 95%CI: 1,12–5,51). Обнаружен статистически значимый защитный эффект у носителей генотипов *GSTT1(+)/GSTM1(+)* в группе «медленных» ацетиляторов (OR = 0,48; 95%CI: 0,27–0,86). Таким образом, «медленный» тип ацетилирования оказывает модифицирующее влияние на вклад *GST*-генов в предрасположенность к РЛ: повышает рисковую значимость комбинации *GSTT1(-)/GSTM1(+)* и увеличивает протективное значение комбинации *GSTT1(+)/GSTM1(+)*.

АТФ-зависимый транспортный белок Р-гликопротеин (фаза выделения) участвует как в выведении ксенобиотиков наружу из цитоплазмы, так и в ограничении поступления субстратов в клетку. Р-гликопротеин кодируется геном *MDR1*. Считается, что из 50 полиморфных локусов указанного гена наибольшее значение имеет полиморфизм С3435Т в 26-м экзоне [23]. Указанный полиморфизм не приводит к изменению аминокислотной последовательности Р-гликопротеина, но изменяет уровень его экспрессии. Ассоциация С3435Т-полиморфизма с предрасположенностью к РЛ практически не изучалась.

Таблица 5. Распределение частот встречаемости различных комбинаций полиморфных вариантов генов *GSTM1*, *GSTT1* в зависимости от типа ацетилирования у исследуемых групп

Генотип	Больные РЛ		Контроль		OR (95%CI)
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Быстрые ацетиляторы	39	42,4	124	37,8	1,21 (0,76–1,94)
<i>GSTT1(+)/GSTM1(+)</i>	15	16,3	55	16,8	0,98 (0,52–1,81)
<i>GSTT1(+)/GSTM1(-)</i>	15	16,3	51	15,5	1,06 (0,56–1,98)
<i>GSTT1(-)/GSTM1(+)</i>	7	7,6	13	4,0	2,00 (0,77–5,16)
<i>GSTT1(-)/GSTM1(-)</i>	2	2,2	5	1,5	1,44 (0,27–7,52)
Медленные ацетиляторы	53	57,6	204	62,2	0,82 (0,51–1,32)
<i>GSTT1(+)/GSTM1(+)</i>	17	18,5	105	32,0	0,48 (0,27–0,86) *
<i>GSTT1(+)/GSTM1(-)</i>	17	18,5	70	21,3	0,83 (0,46–1,48)
<i>GSTT1(-)/GSTM1(+)</i>	11	11,9	17	5,2	2,48 (1,12–5,51) *
<i>GSTT1(-)/GSTM1(-)</i>	8	8,7	12	3,7	2,51 (0,99–6,33)

\*  $P < 0,05$  – значимые различия по критерию  $\chi^2$ .

Анализ распределения полиморфных вариантов гена *MDR1* у больных РЛ в нашем исследовании показал, что частоты встречаемости генотипов статистически не отличались от их распределения в контрольной группе. У больных она составила: 3435ТТ – 31,6 %, 3435СТ – 48,0 %, 3435СС – 20,4 %; в контрольной группе: 3435ТТ – 25,9 %, 3435СТ – 53,4 %, 3435СС – 20,7 %.

Анализ ассоциации отдельных полиморфных генов с возникновением РЛ не дает полного представления о роли системы ФБК в формировании предрасположенности к заболеванию, поэтому был проведен анализ суммарного вклада полиморфных вариантов изученных генов у 92 пациентов с РЛ и 328 человек без онкопатологии. В табл. 6 представлены наиболее значимые сочетания полиморфных вариантов генов, ассоциированные с предрасположенностью к возникновению РЛ.

В контрольной группе чаще встречается комбинация генотипов 734СА *CYP1A2/GSTT1(+)/GSTMI(+)*, но при сравнении с группой больных значение  $OR = 0,55$ ;  $95\%CI: 0,29-1,04$  статистически недостоверно.

Сочетания генотипов 734АА *CYP1A2/GSTT1(-)* и *GSTT1(-)/3435СС MDR1* являются неблагоприятными и повышают риск развития РЛ у носителей таких комбинаций ( $OR = 3,42$ ;  $95\%CI: 1,68-6,97$  и  $OR = 4,37$ ;  $95\%CI: 1,54-12,38$  соответственно). При этом необходимо подчеркнуть, что точность прогноза предрасположенности к развитию РЛ повышается с увеличением количества анализируемых генов: рис-

ковая значимость комбинации 734АА *CYP1A2/GSTT1(-)* увеличивается при сочетании с генотипом *GSTMI(+)* ( $OR = 3,95$ ;  $95\%CI: 1,71-9,12$ ). Наибольшую рисковую значимость имеют комбинации: 734АА *CYP1A2/GSTT1(-)/GSTMI(+)*/3435СС *MDR1* и 734АА *CYP1A2/GSTT1(-)/GSTMI(+)*/«медленный» ацетилятор/3435СС *MDR1*. Полученные данные свидетельствуют о том, что для формирования риска развития РЛ имеет значение дисбаланс активации/детоксикации ксенобиотиков: среди больных РЛ чаще встречаются индивидуумы, имеющие повышенную активность *CYP1A2* на фоне нарушения работы *GSTT1*. Следует отметить также, что в состав протективных комбинаций входят гены *GSTT1* и *GSTMI* с неизменной функцией, а в неблагоприятных комбинациях всегда присутствует генотип *GSTT1(-)*.

Можно предположить, что в формировании предрасположенности к РЛ в белорусской популяции ключевую роль играют *GST*, а именно *GSTT1*. Это можно объяснить тем, что гомозиготная делеция *GSTT1* приводит к полному отсутствию экспрессии соответствующего фермента, что, очевидно, ведет к более значимым последствиям. Вместе с тем известна универсальность *GST*, которая обусловлена некоторыми свойствами этих ферментов:

1) глутатионзависимой детоксикации подвергается большое число ксенобиотиков, которые обладают канцерогенной и мутагенной активностью;

2) *GST* относят к ферментам антиоксидантной системы;

Таблица 6. OR наиболее значимых комбинаций полиморфных вариантов генов ФБК в формировании предрасположенности к развитию РЛ

Генотип	Больные (92 человека), n (%)	Контроль (328 человек) (%)	OR (95%CI)
734СА <i>CYP1A2/GSTT1(+)/GSTMI(+)</i>	13 (14,1)	76 (23,2)	0,55 (0,29–1,04)
734АА <i>CYP1A2/GSTT1(-)</i>	16 (17,4)	19 (5,8)	3,42 (1,68–6,97) *
734АА <i>CYP1A2/GSTT1(-)/GSTMI(+)</i>	12 (13,0)	12 (3,7)	3,95 (1,71–9,12) *
<i>GSTT1(-)/3435СС MDR1</i>	8 (8,7)	7 (2,1)	4,37 (1,54–12,38) *
734АА <i>CYP1A2/GSTT1(-)/GSTMI(+)/3435СС MDR1</i>	5 (5,4)	2 (0,6)	9,37 (1,78–49,12) *
734АА <i>CYP1A2/GSTT1(-)/GSTMI(+)</i> / «медленный» ацетилятор/3435СС <i>MDR1</i>	5 (5,4)	1 (0,3)	18,79 (2,17–162,96) *

\*  $P < 0,05$  – значимые различия по критерию  $\chi^2$ .

3) участвуют в метаболизме некоторых стероидных соединений, потеря функции этих ферментов может привести к нарушению элиминации метаболитов стероидных гормонов (в последние годы развитие аденокарциномы связывают с измененным гормональным статусом);

4) вовлечены в синтез простагландинов и лейкотриенов (РЛ часто развивается на фоне хронических воспалительных процессов в бронхах и легочной паренхиме) [16].

Все перечисленные данные свидетельствуют о том, что нуль-генотип *GSTT1* играет доминирующую роль в предрасположенности к РЛ у жителей Беларуси, при этом полиморфные варианты других ФБК оказывают модифицирующий эффект, повышая или уменьшая рисковую значимость генотипа *GSTT1*(-).

*A.P. Mikhalenko, E.V. Krupnova,  
N.N. Chakova, N.V. Chebotareva,  
Yu.E. Demidchik*

Institute of Genetics and Cytology NASB, Minsk  
Belarusian Medical Academy of Post-Graduate  
Education, Minsk  
E-mail: E.Michalenko@igc.bas-net.by

EVALUATION OF CONNECTION  
OF COMBINATIONS OF POLYMORPHIC  
VARIANTS OF GENES  
OF XENOBIOTIC  
METABOLIZING ENZYMES  
WITH A PREDISPOSITION  
TO LUNG CANCER

Imbalance between the phases of the biotransformation system (activation, detoxication and removal of toxic compounds) is one of the causes of multifactorial pathology developing. That is why study on the influence of the total contribution of polymorphic gene variants of xenobiotic biotransformation enzymes of all three phases on predisposition to lung cancer emergence is important. The aim of the work was to determine polymorphic variants of genes of xenobiotic biotransformation enzymes of lung cancer patients and to identify markers of predisposition to lung cancer. Association of homozygous *GSTT1* gene deletion with predisposition to lung cancer was detected in residents of Belarus. Combinations of polymorphic gene loci of biotransformation enzymes exert a modifying effect on risk importance of *GSTT1* genotype in lung cancer development. The combination 734AA *CYP1A2/GSTT1*(-)/*GSTM1*(+)/«slow» acetylator/3435CC *MDR1* is of the highest risk importance. The combination «slow» acetylator/*GSTT1*(+)/*GSTM1*(+) exerts a protective effect.

*O.P. Mikhalenko, E.V. Krupnova,  
N.M. Chakova, N.V. Chebotareva,  
Yu.E. Demidchik*

ОЦІНКА ЗВ'ЯЗКУ КОМБІНАЦІЙ  
ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ГЕНІВ  
ФЕРМЕНТІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ  
КСЕНОБІОТИКІВ ЗІ СХИЛЬНІСТЮ  
ДО ВИНИКНЕННЯ РАКУ ЛЕГЕНІ

Дисбаланс між фазами системи біотрансформації (активацією, детоксикацією і виведенням токсичних сполук) – одна з причин розвитку мультифакторної патології. Тому важливим є вивчення сумарного внеску поліморфних варіантів генів ферментів біотрансформації ксенобіотиків усіх трьох фаз в схильність до виникнення раку легені. Мета роботи – вивчення зв'язку поліморфних варіантів генів ферментів біотрансформації ксенобіотиків з ризиком виникнення раку легені для пошуку молекулярно-генетичних маркерів схильності до цього захворювання. Встановлено, що нуль-генотип *GSTT1* грає домінуючу роль у розвитку схильності до раку легені в білоруській популяції, при цьому поліморфні варіанти інших генів ферментів біотрансформації ксенобіотиків справляють модифікуючий ефект на схильність до цього захворювання: найбільшу ризикову значимість має комбінація 734AA *CYP1A2/GSTT1*(-)/*GSTM1*(+)/«повільний» ацетилятор/3435CC *MDR1*, а комбінація *GSTT1*(+)/*GSTM1*(+)/«повільний» ацетилятор проявляє захисний вплив.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Поляков С.М., Левин Л.Ф., Шебеко Н.Г., Щербина О.Ф. Злокачественные новообразования в Беларуси 2000–2009 / Респ. науч.-практ. центр мед. технологий, информатизации, управления и экономики здравоохранения / Под ред. М.М. Сачек, А.И. Ларионова. – Минск, 2010. – 205 с.
2. Nebert D.W., Ingelman-Sundberg M., Daly A.K. Genetic epidemiology of environmental toxicity and cancer susceptibility: human allelic polymorphisms in drug-metabolizing enzyme genes, their functional importance, and nomenclature issues // *Drug Metab. Rev.* – 1999. – 31, № 2. – P. 467–487.
3. Goldstraw P., Crowley J., Chansky K. et al. The IASLC lung cancer staging project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification of malignant tumours // *J. Thorac. Oncol.* – 2007. – 2, № 8. – P. 706–714.
4. Colby T.V., Strickler J.G. Critical commentary // *Pathol. Res. Pract.* – 1995. – 191, № 11. – P. 1175–1177.
5. Kotsopoulos J., Ghadirian P., El-Sohemy A. et al. The *CYP1A2* genotype modifies the association between coffee consumption and breast cancer risk among

- BRCA1 mutation carriers // *Cancer Epidem. Biomark. Prev.* — 2007. — **16**, № 5. — P. 912–916.
6. *Arand M., Mühlbauer R., Hengstler J. et al.* A multiplex polymerase chain reaction protocol for the simultaneous analysis of the glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms // *Anal. Biochem.* — 1996. — **236**, № 1. — P. 184–186.
  7. *Gil J.P., Lechner M.C.* Increased frequency of wild-type arylamine-N-acetyltransferase allele NAT2\*4 homozygotes in Portuguese patients with colorectal cancer // *Carcinogenesis.* — 1998. — **19**, № 1. — P. 37–41.
  8. *Li Y., Wang Y., Sun J. et al.* Distribution of the functional MDR1 C3435T polymorphism in the Han population of China // *Swiss Med Wkly.* — 2006. — **136**, № 23/24. — P. 377–382.
  9. *Реброва О.Ю.* Сравнение групп по качественному бинарному признаку // *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica.* — М.: МедиаСфера, 2002. — 312 с.
  10. *Nowell S.A., Ahn J., Ambrosone C.B.* Gene-nutrient interactions in cancer etiology // *Nutr. Rev.* — 2004. — **62**, № 11. — P. 427–438.
  11. *Sachse C., Brockmöller J., Bauer S. et al.* Functional significance of a C->A polymorphism in intron 1 of the CYP1A2 gene tested with caffeine // *J. Clin. Pharmacol.* — 1999. — **47**, № 4. — P. 445–449.
  12. *Hosgood H.D., Berndt S.I., Lan Q.* GST genotypes and lung cancer susceptibility in Asian populations with indoor air pollution exposures: a meta-analysis // *Mutat. Res.* — 2007. — **636**, № 1/3. — P. 134–143.
  13. *Raimondi S., Paracchini V., Autrup H. et al.* Meta-and pooled analysis of GSTT1 and lung cancer: a HuGE-GSEC review // *Amer. J. Epidemiol.* — 2006. — **164**, № 11. — P. 1027–1042.
  14. *Sorensen M., Autrup H., Tjønneland A. et al.* Glutathione S-transferase T1 null-genotype is associated with an increased risk of lung cancer // *Int. J. Cancer.* — 2004. — **110**, № 2. — P. 219–224.
  15. *Spitz M.R., Duphorne C.M., Detry M.A. et al.* Dietary intake of isothiocyanates : Evidence of a joint effect with glutathione S-transferase polymorphisms in lung cancer risk // *Cancer Epidem. Biomark. Prev.* — 2000. — **9**, № 10. — P. 1017–1020.
  16. *Дмитриева А.И.* Роль полиморфных генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и гена P53 в патогенезе онкологических заболеваний : Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — Томск, 2009. — 43 с.
  17. *Ляхович В.В., Вавилин В.А., Гавалов С.М. и др.* Роль ферментов биотрансформации ксенобиотиков в предрасположенности к бронхиальной астме и формировании особенностей ее клинического фенотипа // *Вестн. РАМН.* — 2000. — № 12. — С. 36–41.
  18. *Miller D.P., Liu G., De Vivo I. et al.* Combinations of the variant genotypes of GSTP1, GSTM1 and p53 are associated with an increased lung cancer risk // *Cancer Res.* — 2002. — **62**, № 10. — P. 2819–2823.
  19. *Borlak J., Reamon-Buettner S.M.* N-acetyltransferase 2 (NAT2) gene polymorphisms in colon and lung cancer patients // *BMC Med. Genet.* — 2006. — **9**, № 7. — P. 58.
  20. *Martínez C., Agúndez J.A., Olivera M. et al.* Lung cancer and mutations at the polymorphic NAT2 gene locus // *Pharmacogenetics.* — 1995. — **5**, № 4. — P. 207–214.
  21. *Hirvonen A., Pelin K., Tammilehto L. et al.* Inherited GSTM1 and NAT2 defects as concurrent risk modifiers in asbestos-related human malignant mesothelioma // *Cancer Res.* — 1995. — **55**, № 14. — P. 2981–2983.
  22. *Hou S.M., Ryberg D., Fält S. et al.* GSTM1 and NAT2 polymorphisms in operable and non-operable lung cancer patients // *Carcinogenesis.* — 2000. — **21**, № 1. — P. 49–54.
  23. *Kroetz D.L., Pauli-Magnus C., Hodges L.M. et al.* Sequence diversity and haplotype structure in the human ABCB1 (MDR1, multidrug resistance transporter) gene // *Pharmacogenetics.* — 2003. — **13**, № 8. — P. 481–494.

Поступила 29.06.12